



Sveriges Lantbruksuniversitet

Institutionen för Vatten och miljö

## **Förbättring av den svenska kiselalgsmetoden-hantering av sedimentering**



*Alexandra Vásquez Guerrero*

*Självständigt arbete i Biologi och miljövetenskap kandidat program*

Utgivningsort: Uppsala, 2010



Sveriges Lantbruksuniversitet

Institutionen för vatten och miljö

*Alexandra Vásquez Guerrero*

# **Förbättring av den svenska kiselalgsmetoden-hantering av sedimentering**

*Handledare: Maria Kahlert*

*Examinator: Frauke Ecke*

***Biologi och miljövetenskap kandidat program***

*Självständigt arbete i miljövetenskap 15 hp*

*EX0432*

*Grund C*

*Uppsala  
2010*

Bild Eunotia spec. (levande individ)

## Abstract

Benthic diatoms are used in Sweden for monitoring water quality in running water; the method is also frequently used in other countries in Europe. One of the problems of the diatom method is the need for sedimentation of the fresh sample, to be able to decant the over standing water and add alcohol as a preservation solution. To my knowledge, no results have been published about how long the settling time must be to ensure that the benthic diatoms really have settled down to avoid a loss of the diatoms when decanting the over standing water.

The aim of my investigation was to improve the Swedish method where the benthic diatoms are used for water quality monitoring. I wanted to find out the appropriate time necessary to wait until all diatoms have settled down before decanting the over standing water.

First, fresh benthic diatom samples were taken in the river Fyrisån and the lake Mälaren on different days. After arriving in the laboratory, I waited three different times (30 min, 60 and 180 min) for the diatoms to settle. Thereafter I counted the settled diatoms in the microscope.

In the next step, I employed a statistic test to investigate if the number of settled diatoms after the different times were significantly different. I expected to identify the time when all diatoms have settled down without losing any diatom when I poured the samples.

The results of the statistic test demonstrated that it is enough to wait 30 min for diatoms to settle. This means that the recommendation for the fresh samples sedimentation time is to wait a minimum of 30 minutes prior counting.

Further studies are needed to investigate the settling of diatoms since this is the first investigation and more samples needed for better understanding of the settling of benthic diatoms.

## Sammanfattning

Kiselalger används i Sverige för övervakning av vattenkvalitet i vattendrag. Metoden används också ofta i andra länder i Europa. Ett av problemen med den svenska kiselalgsmetoden, är behovet av sedimentering av ett prov, för att kunna dekantera överstående vatten och tillsätta alkohol som en konserveringslösning. Vad jag vet, har det inte publicerats någon studie om hur länge ett prov måste sedimentera för att undvika att kiselalger hålls bort vid dekantering.

Syftet med min undersökning var att förbättra den svenska metoden där levande kiselalger används för övervakning av vattenkvalitet. Jag ville ta reda på vilken tid som krävs till dess att alla kiselalger har slagit sig ner innan dekantering.

Studien utfördes på färska kiselalgsprover som tagits i ån Fyrisån och sjön Mälaren på olika dagar. Efter ankomst till laboratoriet, väntade jag tre olika perioder (30 minuter, 60 och 180 minuter) för sedimentering av kiselalger. Efteråt räknade jag antalet sedimenterade kiselalger i mikroskop.

I nästa steg, använde jag ett statistiskt test för att undersöka om skillnaden mellan antalet sedimenterade kiselalger efter de olika tiderna var signifikant olika. Det jag ville veta var vilken tid som krävs för att alla kiselalger ska hinna sedimentera.

Resultatet av den statistiska testen visade att det räcker med att vänta 30 min för kiselalger för att sedimentera. Detta innebär att rekommendationen för färska provers sedimentationstid är att vänta 30 minuter minimum.

Ytterligare studier behövs för att undersöka sedimentering av kiselalger eftersom detta är den första undersökningen och det behövs fler prover för bättre förståelse av kiselalgens sedimentationstid.



# Innehållsförteckning

1	Introduktion .....	7
1.1	Hypotes .....	8
2	Metod.....	10
3	Resultat .....	13
4	Diskussion .....	17
5	Slutsatser.....	19

# 1 Introduktion

Kiselalger är fastsittande påväxtorganismer som ger information om tillståndet i sjöar och vattendrag och hur dessa förändras, t.ex. vid förurning eller algblooming (Naturvårdsverket 2009). Genom att använda en metod som kallas "Vattenundersökningar - Vägledning för identifiering och utvärdering av prover av bentiska kiselalger från vattendrag" har forskarna beskrivit vattentillstånd och vattenförändring i de akvatiska ekosystemen i Europa och USA.

Med den svenska kiselalgsmetoden kan man bedöma allmän vattenkvalitet genom att undersöka vattentillstånd samt dess förändringar med avseende på kiselalgernas artantal, artsammansättning, och relativ förekomst av arter, särskild indikatorarter.

Provtagningar bör göras på platser som är lättillgängliga och helst i strömmande vatten så att det finns ett konstant överflöde av vatten i populationen av kiselalger. Stenar som undersöks ska vara av storlek 10 till 25 cm. Allt material som samlas ska blandas och hällas i burkar med 200-500 ml storlek.

Burkarna ska stå tills materialet har sjunkit ordentligt och därefter dekanteras ca 2/3 av vätskan och ersätts med 96 % etanol. Proverna som ska analyseras ska förvaras mörkt och svalt och skickas till analys senast en dag efter provtagningen (Naturvårdsverket 2009).

Nästa steg efter att kiselalgerna har sedimenterat, är att rengöra skalerna. Detta görs genom att påväxtmaterialet kokas med väteperoxid och tvättas ge-



nom centrifugering med destillerat vatten. Specifierad behandling hittas i handledning för miljöövervakning ”Påväxt i rinnande vatten-kiselalgsanalys” (Naturvårdsverket 2009). Efter rengöringen utförs räkningen och breddmätningen av skalen. Medelvärde av räkningen kommer att ge information om vilken grupp skalen tillhör. Beroende på vilken grupp kiselalgerna tillhör kan man ge en beskrivning av den miljö de växer i, t.ex. näringsrika eller näringsfattiga vatten.

I metodbeskrivningen står det att prover som samlas i burkarna ska stå tills materialet har ”sjunkit ordentligt”. Metoden specificerar inte någon standardtid för sedimentering, vilket har väckt frågan bland utförare om hur länge sedimentering skall pågå. Det innebär ett behov av att standardisera sedimenteringstid för kiselalger vilket är syftet för detta arbete.

Syftet med detta arbete är att förbättra den svenska kiselalgsmetoden genom att analysera sedimentering av kiselalger under vissa bestämda tidsintervaller, nämligen 30, 60 och 180 minuter. Detta har inte undersökts tidigare, varken i Sverige eller i andra länder. En litteratursökning rapporterade inga träffar om publicerade data i ämnet. Därför ger min studie, som är en experimentell undersökning, en första inblick i hur fort kiselalger sedimenterar direkt efter provtagning.

## 1.1 Hypotes

Det första jag ville pröva var om det fanns en ökning av antal kiselalger under de första 30 minutrarna när alla stora och tunga alger sedimenterar. Under de nästa 30 min förväntades att de medelstora algerna skulle sedimentera ner och efter 60 min avtar antalet sedimenterade alger och bara de små och mindre tunga algerna sedimenterar. Vid 180 minuter borde de riktigt små algerna sedimentera. Det innebär att antalet sedimenterade alger borde öka första tiden och ju längre tiden går skulle antalet sedimenterade alger inte bli större eftersom små alger blir mer svåra att upptäcka i råa prover och därför svårt och räkna om antalet ökar eller minskar.

Jag förväntade mig att skillnaden mellan antalet sedimenterade kiselalger vid 30 minuter respektive 60 minuter skulle bli större än skillnaden mellan antalet sedimenterade kiselalgerna vid 60 minuter respektive 180 minuter.

Vid 180 minuter utgick jag ifrån att antalet alger i ett 250 ml sedimenterat klart eftersom jag inte kunde se de riktigt små algerna i råa prover.

## 2 Metod

Proverna togs i Fyrisån vid två tillfällen; 26 mars och 8 april 2010, samt vid Granebergs badplats i Ekoln Mälaren, 20 april 2010. Provtagningen genomfördes enligt handledning "Påväxt rinnande vatten - kiselalgsanalys (Naturvårdsverket 2009)".

Kvistar som fanns i kanten av ån användes eftersom det fattades stenar och makrofyter som är de förskrivna substraten. Kvistarna skakades i en balja som innehöll vatten från samma plats där kvistarna togs. Ungefär tre olika kvistar från kanten av ån skakades i totalt 4 liter vatten.

Vid Granebergs badplats valde jag ut stenar med storlek ca 25 cm som försiktigt skrapades med en tandborste i baljan för att få loss kiselalger.

Alla prover samlades i flaskor av 250 ml och togs in i laboratoriet. Proverna som togs i Fyrisån transporterades till labbet och det tog 15 minuter att gå från provtagningsplatsen till labbet. För proverna som togs i Graneberg tog det ungefär 30 minuter då de transporterades i bil.

På labbet hällde jag innehållet av alla flaskor från ett provtagningsstillfälle i en stor balja. Sedan rördes vattnet i baljan om för att få jämn fördelning av partiklarna i hela baljan.

Jag använde nio bägare (250 ml), och hällde 250 ml vatten från baljan i varje bägare och blandade om hela tiden för att proverna skulle bli så jämnt fördelade som möjligt. Sedan lät jag proverna sedimentera under 30 minuter, 60 minuter och 180 minuter. Tre bägare användes som triplikater för en och samma sedimenteringstid.

Med hjälp av en Pasteur-pipett tog jag 2 ml vatten från botten av den första 250 ml bägaren och överförde till ett plastprovör. Vattenprovet i plaströren spädde jag med 6 ml kranvatten. Sedan gjorde jag ett replikat. Efteråt skakade jag provröret för att få kiselalger att lossna från partiklarna och bli möjliga att räkna i mikroskop. Samma procedur gjordes med de andra två 250 ml bägarna så att det blev totalt sex plaströr med 8 ml vatten per prov för första halvtimmen.

Nästa steg var att göra ett preparat för räkningen i mikroskop. Jag hällde ett vattenprov (subprov) från ett plaströr i en räknekammare med 2 ml volym som skulle placeras i mikroskopet. I mikroskopet användes en 40× förstoring, okularet förstörde sedan med ytterliga 10× till. Jag upprepade samma procedur med de andra provrören (subprover) för att få fler data under första halvtimmen.

För bägarna som stod 60 minuter och 180 minuter användes samma procedur som nämndes ovan för räkningen av kiselalger i mikroskopet. Totalsumman blev sex stycken prover för varje sedimenteringstid.

Själva beräkningen tog mellan fyra och sex timmar per prov vilket gjorde det lämpligt att tillsätta konserveringsmedlet "Lugols lösning" för att undvika att algerna förökade sig eller att deras tillstånd skulle förändra sig.

Statistiska beräkningar gjordes med hjälp av det statistiska programmet Minitab 16 Statistical Software (Olsson 2009 s.23). Jag förväntade mig att skillnaden mellan antalet sedimenterade kiselalger vid 30 och 60 minuter skulle bli större än skillnaden mellan antalet sedimenterade kiselalger vid 60 minuter och 180 minuter. För att ta reda på de olika skillnaderna, la jag in mina värden i programmet och testade med hjälp av det så kallade T-test vilket räknade skillnaden mellan medelvärden.

T-test tillämpas för fall där man antar att populations varianser inte är lika och populationen är oberoende av varandra. Observationerna inom varje stickprov är approximativ normalfördelade (Olsson 2009 s.170).

P-värden som programmet räknar indikerar risken för att ha fel efter att man har provat hypotesen. Inom statistiken har P-värden olika gränser för att betrakta om resultatet är signifikant eller ej. Med enkla ord kan dessa

gränser visa risken för att felaktigt förkasta nollhypotesen (Olsson 2009 sid.140).

### 3 Resultat

Det räknades tre prover vid varje tidpunkt vid tre olika tillfällen. De första 30 minuterna av sedimenteringen räknades totalt 192 kiselalger den 26 mars 2010. Vilka i sin tur räknades utifrån sex olika subprover som visade värdena 20, 38, 7, 74, 20 och 33 räknade alger för respektive subprov. Den 8 april 2010 räknades totalt 244 kiselalger i 6 olika subprover som visade värden 24, 57, 48, 33, 44, 38 räknade kiselalger för respektive subprov.

Slutligen den 20 april räknades totalt 339 kiselalger. Dessa var också fördelade i 6 olika subprover som visade värden 67, 57, 39, 69, 52, 55 kiselalger för respektive subprov (Se figur 1 första halvtimmen).

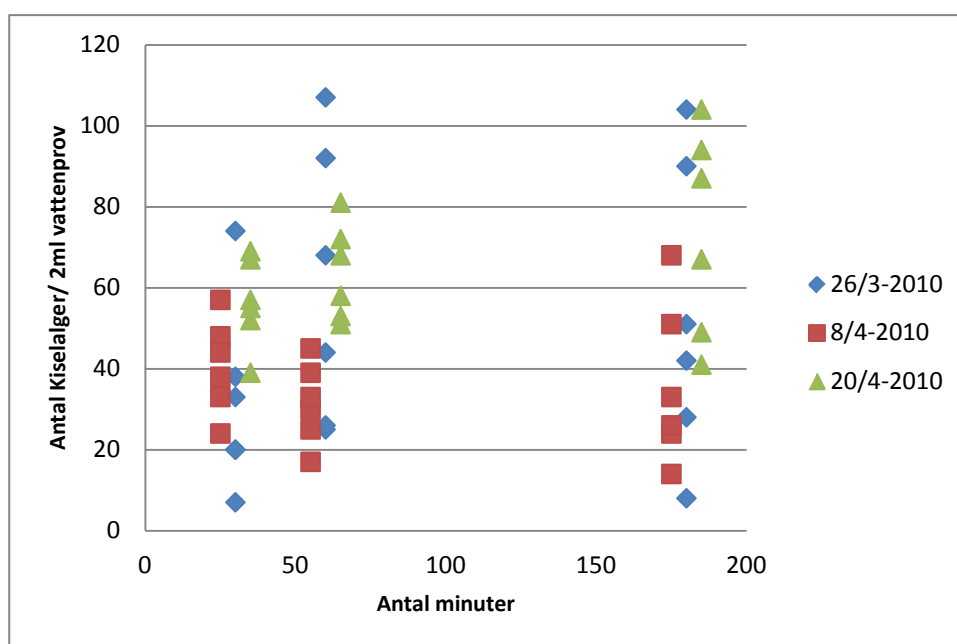
Den första halvtimmen av sedimentering räknades totalt 775 kiselalger i 18 olika subprover som i sin tur visade medelvärdet 43,06 med standardavvikelse 18,53.

Räkning efter 60 minuters sedimentering gjordes på samma sätt som vid första halvtimmen. Den 26 mars 2010 räknades totalt 362 kiselalger fördelade i 6 subprover som visade värden 25, 92, 26, 107, 44, 68 räknade kiselalger för respektive subprov. Den 8 april räknades totalt 189 kiselalger i 6 subprover med värdena 17, 30, 33, 25, 39, 45 kiselalger för respektive subprov och den 20 april 2010 totalt 383 kiselalger i 6 subprover som visade värdena 58, 51, 81, 53, 68, 72 kiselalger för respektive subprov (Se figur 1 vid 60 minuter).

Efter 60 minuters sedimentering räknades totalt 934 kiselalger fördelade i 18 subprover vilka i sin tur visade medelvärdet 51, 89 med standardavvikelse 25,32.

Slutligen räknades kiselalger efter 180 minuters sedimentering. Den 26 mars 2010 räknades totalt 323 kiselalger fördelade i 6 subprover med värdena 28, 104, 8, 51, 42, 90 för respektive subprov. Den 8 april räknades totalt 218 kiselalger fördelade i 6 subprover som visade värdena 26, 14, 33, 26, 68, 51 för respektive subprov. Den 20 april räknades totalt 442 kiselalger i 6 subprover som visade värdena 94, 49, 87, 104, 67, 41 kiselalger för respektive subprov (se figur 1 vid 180 minuter).

För sedimentering vid 180 minuter räknades totalt 983 kiselalger fördelade i 18 subprover som visade medelvärdet 54,50 med standardavvikelse 30,89.



**Figur 1.** Antal räknade kiselalger per 2 ml vattenprov från subprover som sedimenterade vid tre olika tidsintervall. Prover samlades vid tre olika tillfällen.

Statistiken visade att skillnaden mellan antalet räknade kiselalger som sedimenterade mellan 30 och 60 minuter och mellan 60 och 180 minuter alternativt mellan 30 och 180 minuter inte var signifikant.

Skillnaden mellan antalet räknade kiselalger vid 30 min och 60 min visade ett n-värde på 18 (eftersom det var 18 subprover jag räknade), ett t-värde på -1,19 och ett p-värde på 0,242.

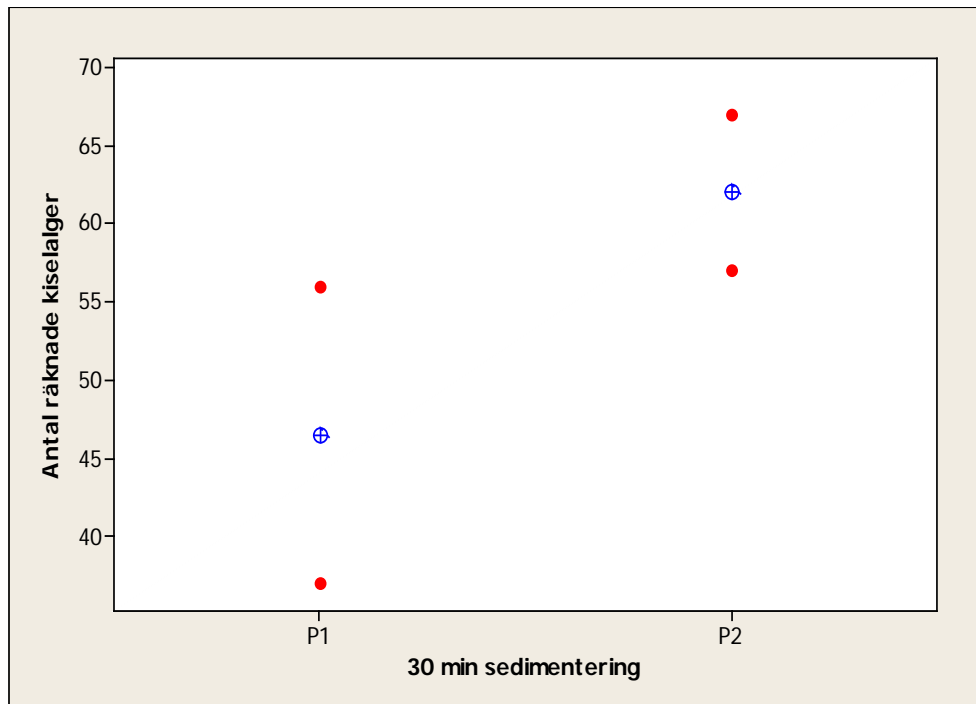
Testet visade att skillnaden mellan antalet sedimenterade kiselalger inte var signifikant vid 60 minuter och 180 minuter. T-testet visade ett T-värde på -0,28, ett p-värde på 0,392 och ett n-värde på 18. Sist testade jag skillnaden mellan antal sedimenterade kiselalgerna vid 30 minuter och 180 minuter. T-testet visade ett n-värde på 18, ett t-värde på -1,35 och ett p-värde på 0,095.

Under experimentens gång har jag upptäckt att räkningen av kiselalger blir tydligare när man räknar dem levande än när konserveringsmedel "Lugols lösning" har tillsatts vilket medför att en felräkning kan uppstå just i detta steg av experimentet. För att klargöra detta gjorde jag ett litet experiment där jag räknade antalet sedimenterade alger efter 30 minuter utan konserverings medel och därefter räknade jag prover med konserveringsmedel.

Räkningen av kiselalger utan konserveringsmedel visade totalt 93 kiselalger fördelade i 2 subprover med värden 37 och 56 kiselalger för respektive subprov. Räkningen av kiselalger med konserveringsmedel visade totalt 124 kiselalger fördelades i 2 subprover som visade värden 57 och 67 för respektive subprov.

Resultatet visade att antalet räknade kiselalger tenderade att öka vid tillsättning av konserveringsmedel men tendensen var inte signifikant (Figur 2). T-testet visade ett n-värde på 2 ett p-värde på 0,479 och slutligen ett t-värde på -1,07.





**Figur 2.** Antalet räknade kiselalger före och efter tillsats av konserveringsmedel. P1 står för prover som räknades utan konserveringsmedel och P2 står för prover som räknades med konserveringsmedel. De röda punkter motsvarar antal prover där det räknades kiselalger och blå punkter motsvarar medelvärde av antal räknade kiselalger för dessa prover. För ytterligare information om figur 2 hänvisas till bilaga 2.

Sammanfattningsvis visade alltså statistiken att skillnaden mellan antalet räknade kiselalger som sedimenterar mellan 30 och 60 minuter och mellan 60 och 180 minuter alternativt mellan 30 och 180 minuter inte var signifikant i något av testen. Detta innebär att det inte tillkommer signifikant många kiselalger i botten av provet efter 30 minuter, det vill säga att antalet sedimenterade kiselalger efter 60 och 180 minuter inte var så signifikant större än antalet sedimenterade kiselalger vid 30 minuter.

## 4 Diskussion

Resultaten visade att tidsintervallet för sedimentering (30, 60 eller 180 minuter) inte påverkade antalet räknade kiselalger.

En litteraturstudie av artiklar och rapporter skulle ge vägledning om hur sedimenteringstiden för kiselalgerna skulle se ut och fungera som jämförelsematerial till min undersökning. Då den visade att det inte finns några studier överhuvudtaget om just detta ämne, var det inte möjligt att jämföra.

Däremot finns en studie som handlar om hur kiselalgsanalys utvecklas och förbättras i andra länder i Europa (Blanco, 2007). Syftet med undersökningen var att förbättra kvaliteten på preparat inför mikroskopering. Artikeln förklarar fyra aspekter som undersöktes för att förbättra metoden. Bland de aspekter som nämndes i artikeln, var undersökning av sedimentering av kiselalger i själva objektglaset men i artikeln diskuteras inte med sedimentering direkt efter provtagning som var syftet med min undersökning.

Den andra källa som jag använde för att jämföra sedimenteringstid av kiselalger var handledningen för provtagning i Europa "Water quality- Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers" (The European Committee for Standardization, 2003).

I handledningen står i punkt 6.4.1 "preservation and preliminary laboratory treatment" efter fältprovtagningen, vilket innebär att proverna skulle stå för sedimentering i 24 timmar. Jag hittade varken förklaring eller källa i

handledningen som stödjer att just 24 timmar är det lämpligaste tidsintervallet för kiselalgers sedimenteringstid efter provtagning.

Den tredje och sista källan som jag använde för att jämföra mitt arbete var "Instruction protocol for the ecological Assessment of running Waters for implementation of the EU water framework Directive: Macrophytes and Phytobenthos" (Schaumburg, 2005) där det återigen nämns en sedimenteringstid av 24 timmar för färska prover. Dessutom nämns alternativen evaporation för överstående vatten istället för sedimentation.

Jag hittade inte heller här en källa eller förklaring om varför just 24 timmar var den lämpligaste tiden för sedimentering av färska prover.

På grund av att det inte finns något tidigare experiment om sedimentering av kiselalger kommer mitt experiment att vara unikt. Några fel kan ha uppstått i min undersökning, som möjligtvis kan ha påverkat antalet räknade kiselalger. Det kan t.ex. ha uppstått fel i beredningen av subproverna, mängden vatten vid spädning i provrör var inte exakt 6 ml. Dessutom är det möjligt att jag har missat några kiselalger vid räkning på grund av att jag räknade kiselalger i råa, opreparerade prover. Kanske låg några kiselalger osynliga under organiskt material eller så har jag missat de allra minsta kiselalgerna för de är svårt att se i råprover. För att kunna se de små algerna krävs att proverna ska kokas för att kunna ta bort allt organiskt material och smuts.

Sedimenteringstiden för dessa småalger borde vara föremål för nästa undersökning, troligtvis behöver de längre tid att sedimentera eftersom de inte är så tunga.

## 5 Slutsatser

De slutsatser jag har kommit fram till är för det första att proverna skulle ha sedimenterats i en halvtimme, och därefter borde konserveringsmedel tillsatts och proverna transporterats vidare till labbet för vidare behandling. För att säkert kunna mer exakt avgöra vilken tid som räcker för sedimentering borde fler undersökningar genomföras med ett större antal provtagningar för att få bättre förståelse för kiselalgernas sedimenteringstid.

För det andra visade tillsättningen av konserveringsmedel "lugols" att det inte finns någon skillnad mellan antalet räknade kiselalger före och efter tillsättningen. Räkningen av kiselalger påverkades inte av behandlingen med "lugols" vilket utesluter denna faktor som ett möjligt fel som skulle ha påverkat resultatet.

## Referenser:

- Naturvårdsverket (2009) *Påväxt i rinnande vatten-kiselalgsanalys* version 3:1:2009-03-13[online]  
Tillgänglig:  
[http://www.naturvardsverket.se/upload/02\\_tillstandet\\_i\\_miljon/Miljoovervakning/undersokn\\_typ/sot\\_vatten/pavaxt.pdf](http://www.naturvardsverket.se/upload/02_tillstandet_i_miljon/Miljoovervakning/undersokn_typ/sot_vatten/pavaxt.pdf) [2010-05-09]
- Olsson,U.,Englund,J.,Engstrand,U.,(2009) *Biometri*.1:4.omarbetade uppl. Lund : Studentlitteratur
- Blanco,S.,Álvarez,I.,Cejudo,C.,(2007) *A test on different aspects of diatom processing techniques*.  
J Appl Phycol (2007) 20:445-450.
- The European committee for standard. EN 13946: 2003.*Water quality- Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers*.
- Shaumburg, J.,Schmedtje,U.,Schrenz,C.,Köpf,B.,Schneider,S.,Meilinger,P.,Hofmann,G.,Gutwski,A., Foerster,J.,(2005). *Instruction Protocol for the ecological Assessment of Running Waters for Implementation of the EU Water Framework Directive: Makrophytes and Phytobenthos*.  
Tillgänglig:  
[http://www.lfu.bayern.de/wasser/forschung\\_und\\_projekte/phylib\\_englisch/instruction\\_protocols/index.htm](http://www.lfu.bayern.de/wasser/forschung_und_projekte/phylib_englisch/instruction_protocols/index.htm).

## **Bilaga 1**

Hänvisning till figur 1.

Beräkningar för att undersöka skillnaden mellan antal räknade kiselalger efter 30,60 och 180 minuter.

Beräkningar för T-test där man antar att populationens varianser inte antas vara lika och populationerna är oberoende av varandra. Observationerna inom varje stickprov är approximativ normalfördelade (Olsson 2009 s.170).

Alla räkningar har gjorts i statistikprogrammet Minitab 16 Statistical Software (Olsson 2009 s.23).

Descriptive Statistics:  $\mu_1$ ,  $\mu_2$ ,  $\mu_3$

Variable	N	Mean	StDev
$\mu_1$	18	43,06	18,53
$\mu_2$	18	51,89	25,32
$\mu_3$	18	54,50	30,89

$H_0$ : Det finns ingen skillnad i antalet kiselalger som sedimenterar vid 30 min och 60 min.

$H_1$ : Det finns en skillnad i antalet kiselalger som sedimenterar vid 30 min och 60 min.

Test för  $H_0 : \mu_1 - \mu_2 = 0$

$H_1 : \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Two-Sample T-Test and CI

Sample	N	Mean	StDev	SE Mean
1	18	43,1	18,5	4,4

2      18 51,9 25,3      6,0

Difference =  $\mu(1) - \mu(2)$   
 Estimate for difference: -8,83  
 95% CI for difference: (-23,91; 6,25)  
 T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = -1,19 P-Value = 0,242

Mitt test är inte signifikant. Detta innebär att skillnaden mellan antalet kiselalger som sedimenterar vid 30 minuter och 60 minuter inte är signifikant.

$H_0$ : Det finns ingen skillnad i antalet kiselalger som sedimenterar vid 60 min och 180 min.

$H_1$ : Det finns en skillnad i antalet kiselalger som sedimenterar vid 60 min och 180 min.

Statistik t-test för:  $H_0: \mu_2 - \mu_3 = 0$   $H_1: \mu_2 - \mu_3 \neq 0$

Two-Sample T-Test and CI

Sample	N	Mean	StDev	SE Mean
1	18	51,9	25,3	6,0
2	18	54,5	30,9	7,3

Difference =  $\mu(1) - \mu(2)$   
 Estimate for difference: -2,61  
 95% upper bound for difference: 13,34  
 T-Test of difference = 0 (vs <): T-Value = -0,28 P-Value = 0,392

Mitt test är inte signifikant. Detta innebär att skillnaden mellan antalet kiselalger som sedimenterar vid 30 min och 60 min inte är signifikant.

$H_0$ : Det finns ingen skillnad mellan antalet kiselalger som sedimenterar vid 30 min och 180 min.

$H_1$ : Det finns en skillnad i antalet kiselalger som sedimenterar vid 30 min och 180 min.

Statistik t-test för  $H_0: \mu_1 - \mu_3 = 0$   $H_1: \mu_1 - \mu_3 \neq 0$

### Two-Sample T-Test and CI

Sample N Mean StDev SE Mean

1 18 43,1 18,5 4,4

2 18 54,5 30,9 7,3

Difference =  $\mu$  (1) -  $\mu$  (2)

Estimate for difference: -11,44

95% upper bound for difference: 3,02

T-Test of difference = 0 (vs <): T-Value = -1,35 P-Value = 0,095

Mitt test är inte signifikant. Detta innebär att skillnaden mellan antalet kiselalger som sedimenterar vid 30 min och 180 min inte är signifikant.



## **Bilaga 2**

Beräkningar för att undersöka skillnaden mellan antal räknade kiselalger före och efter tillsättningen av konserveringsmedel. Hänvisar till figur 2.

Alla beräkningar har gjorts i statistikprogrammet Minitab 16 Statistical Software (Olsson 2009 s.23).

Grafen 2 visar P1 som står för antalet kiselalger räknade utan tillsatts av konserveringsmedel där finns två röda punkter. Dessa punkter motsvarar 37 respektive 56 räknade kiselalger. Den blå punkten i mitten motsvarar medelvärdet vilket är 46,5. P2 står för antalet räknade kiselalger efter tillsättning av konserveringsmedel. De två röda punkter motsvarar 57 respektive 67 antal räknade kiselalger. Den blå punkten i mitten motsvarar medelvärdet av dessa punkter vilket är 62.

Descriptive Statistics: C1; C2

Variable	N	Mean	SE Mean	StDev
C1	2	46,50	9,50	13,44
C2	2	62,00	5,00	7,07

Paired T-Test and CI: C1; C2

Paired T for C1 - C2

	N	Mean	StDev	SE Mean
C1	2	46,50	13,44	9,50
C2	2	62,00	7,07	5,00

Difference 2 -15,5 20,5 14,5

95% CI for mean difference: (-199,7; 168,7)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -1,07

P-Value = 0,479

Mitt test är inte signifikant. Detta innebär att skillnaden mellan antalet kiselalger som sedimenterar med konserveringsmedel och utan konserveringsmedel inte är signifikant.